

Rec'd PCT/PTO 04 OCT 2004

PCT/EE 03/01120

0/510116



REC'D 07 JUL 2003

WIPO

PCT

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 11 AVR. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

**INPI**  
N° 11354\*01

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

09 540 W / 303301

Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES

DATE

10 AVRIL 2002

LIEU

75 INPI PARIS

N° D'ENREGISTREMENT

0204464

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE

10 AVR. 2002

PAR L'INPI

Vos références pour ce dossier

(facultatif)

BIF023175/FR

☒ NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE  
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

RINUY, SANTARELLI  
14, avenue de la Grande Armée  
75017 PARIS

Confirmation d'un dépôt par télécopie

☐ N° attribué par l'INPI à la télécopie

☒ NATURE DE LA DEMANDE

Cochez l'une des 4 cases suivantes

Demande de brevet

☒

Demande de certificat d'utilité

☐

Demande divisionnaire

☐

*Demande de brevet initiale*

N°

Date

*ou demande de certificat d'utilité initiale*

N°

Date

Transformation d'une demande de  
brevet européen *Demande de brevet initiale*

☐

N°

Date

☒ TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

Nouveaux peptides et leur application en thérapeutique.

☒ DÉCLARATION DE PRIORITÉ  
OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE  
LA DATE DE DÉPÔT D'UNE  
DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

☐ S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

☒ DEMANDEUR

☐ S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

Nom ou dénomination sociale

NEOVACS

Prénoms

Forme juridique

N° SIREN

Code APE-NAF

Société Anonyme

59, avenue Victor Hugo,

Adresse

Rue

Code postal et ville

75017 PARIS

Pays

FRANCE

FRANÇAISE

Nationalité

N° de téléphone (facultatif)

N° de télécopie (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

Remplir impérativement la 2<sup>ème</sup> page

REMISE DES PIÈCES DATE <b>10 AVRIL 2002</b> LIEU <b>75 INPI PARIS</b> N° D'ENREGISTREMENT <b>0204464</b> NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réservé à l'INPI		DB 540 W / 330301	
Vos références pour ce dossier : <i>(facultatif)</i>			<b>BIF023175/FR</b>		
<b>6 MANDATAIRE</b> Nom Prénom Cabinet ou Société  N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel  Adresse Rue Code postal et ville N° de téléphone <i>(facultatif)</i> N° de télécopie <i>(facultatif)</i> Adresse électronique <i>(facultatif)</i>			<b>RINUY, SANTARELLI</b>  <b>14 AVENUE DE LA GRANDE ARMÉE</b> <b>75017 PARIS</b> <b>01 40 55 43 43</b>		
<b>7 INVENTEUR (S)</b> Les inventeurs sont les demandeurs			<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <b>Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée</b>		
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b> Établissement immédiat ou établissement différé			Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) <input checked="" type="checkbox"/> Établissement immédiat <input type="checkbox"/> Établissement différé		
Paiement échelonné de la redevance			<b>Paiement en deux versements, uniquement pour les personnes physiques</b> <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
<b>9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b>			Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt (joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence) :		
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes					
<b>10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire)  Georges PERIN N°92.1191 RINUY, SANTARELLI				<b>VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI</b>  <b>L. GUICHET</b>	

La présente invention concerne de nouveaux peptides et leur application en thérapeutique.

L'immunisation active anti-cytokine est une stratégie d'immunothérapie active développée depuis 1990 par Zagury et al. qui repose  
5 notamment sur la demande de brevet WO 92/22577.

Cette idée a été reprise par plusieurs équipes scientifiques qui ont publié dans des revues scientifiques internationales des immunisations actives contre la protéine entière d'IFN $\alpha$  multimérisée par traitement au glutaraldéhyde (Gringeri et al, JAIDS 1999;20:358-70), une protéine TNF $\alpha$   
10 chimérique consistant au couplage de la protéine native du TNF $\alpha$  avec un épitope T de l'ovalbumine (Dalum et al, Nature Biotechnology, 1999;17:666-69), contre de l'IL9 entière couplée avec du KLH (Richard et al, PNAS, 2000;97:767-72) ou encore de l'IL5 entière chimérique avec un épitope T de toxine tétanique (Hertz et al, J. Immunol, 2001;167:3792-99).

15 Ces approches ont confirmé la faisabilité d'immunisations autologues anti-cytokines, mais ces quelques succès cachent les essais infructueux décrits par certains auteurs : certaines cytokines ne permettent pas d'obtenir d'anticorps suffisamment protecteurs et d'effet clinique, et la même cytokine préparée sous une forme efficace d'une façon ne le sera pas  
20 sous une autre (Richard et al, PNAS, 2000;97:767-72).

En essayant d'expliquer ce phénomène, la demanderesse a observé que jusqu'à présent tous les auteurs ont utilisé des cytokines entières (éventuellement légèrement modifiées), ce qui entraîne des difficultés notamment aux niveaux suivants :

- 25 - dilution du pouvoir immunogène des déterminants antigéniques d'intérêt (pour les réponses B et T)  
- genèse possible d'anticorps facilitants in vivo (réponse B).

Il serait donc souhaitable de disposer d'antigènes permettant d'obtenir des anticorps suffisamment protecteurs vis-à-vis des cytokines, et  
30 limitant leur activité .

C'est pourquoi la présente demande a pour objet des peptides de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés, provenant d'une cytokine, caractérisés en ce que au moins un de ses acides aminés et de préférence au moins deux de ses acides aminés consécutifs comportent au moins un de ses  
 5 atomes espacé d'une distance  $d$  de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, l'espacement  $d$  étant évalué sur des données structurales (par exemple cristallographie ou RMN) et de préférence en ce qu'ils induisent des anticorps interagissant avec ladite cytokine.

10 A cause de leur longueur, les peptides de cytokine selon l'invention correspondent à un nombre limité d'épitopes de la cytokine, en général à un ou deux épitopes de la cytokine, et sont en conséquence dépourvus des nombreux autres épitopes qu'elles renferment.

Par "cytokine", on entend aussi bien les cytokines vraies que les  
 15 cytokines chimio-attractives encore appelées chimiokines. On préfère les cytokines humaines. Par "interagissant" on signifie que ces anticorps, par exemple soit parce qu'ils reconnaissent la protéine native comme on peut le montrer par un test immunologique (ELISA, Western Blot), soit parce qu'ils bloquent la liaison de la cytokine à son récepteur comme on peut le montrer  
 20 par un test d'activité biologique ou un test de compétition biochimique, ont un effet clinique bénéfique in vivo.

Parmi les cytokines, on peut citer par exemple le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le vEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15,18, l'IP10, les MIP 1 $\alpha$  et 1 $\beta$ , MCP1, et Rantes. Parmi les cytokines ci-dessus, on préfère le  
 25 TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le vEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15, et tout particulièrement l'IL1  $\beta$ , le vEGF, le TNF  $\alpha$  et l'IFN  $\alpha$ .

Les peptides de cytokine selon l'invention proviennent ou dérivent d'une cytokine. Par "proviennent" l'on entend que leur séquence d'acides aminés est identique à celle de la cytokine. Par "dérivent" l'on entend  
 30 que leur séquence d'acides aminés est majoritairement identique à celle de la cytokine mais comporte quelques différences comme on le verra ci-après.

Au moins un acide aminé des peptides de cytokine de l'invention et de préférence deux acides aminés consécutifs possède(nt) un de ses atomes espacé de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine. Il est avantageusement espacé de moins de 4,5 angströms, notamment espacé de moins de 4 angströms et particulièrement espacé de moins de 3,5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine.

En général l'atome concerné de l'acide aminé se trouve sur la chaîne latérale dudit acide aminé.

10 Dans des conditions préférentielles de mise en œuvre de l'invention 2, notamment 3 et de préférence 4 acides aminés consécutifs du peptide de cytokine répondent à ce même critère d'espacement.

Cet espacement est évalué sur des données structurales par exemple de cristallographie, ou encore par RMN qui donne des résultats  
15 similaires aux mesures cristallographiques.

Les peptides de cytokine ci-dessus comportent avantageusement plus de 8, notamment plus de 10, particulièrement plus de 12 et tout particulièrement plus de 15 acides aminés.

Dans d'autres conditions préférentielles de mise en œuvre de  
20 l'invention, les peptides de cytokine ci-dessus comportent moins de 35, avantageusement moins de 30, notamment moins de 25 et particulièrement moins de 20 acides aminés. Généralement les séquences les plus courtes correspondent à des peptides contenant un seul groupe d'au moins deux acides aminés consécutifs comportant au moins un de leurs atomes espacé  
25 de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, tandis que les séquences les plus longues correspondent en général à des peptides selon l'invention contenant deux ou même trois groupes ou plus de tels acides aminés consécutifs. En effet ces groupes peuvent être espacés par plusieurs, par exemple 10 acides aminés comme dans le cas de  
30 l'IL1 $\beta$ .

Parmi les peptides de cytokine ci-dessus, on retient notamment un ou plusieurs peptides choisis parmi ceux dont les noms qui suivent :

<p>- hIL1<math>\beta</math> (Human Interleukin 1 beta)</p> <p>1-APVRSLNCTL-10 (ID SEQ N° 1)</p> <p>29-LHLQGQDMEQQ-39 (ID SEQ N° 2)</p> <p>123-STSQAENMPV-132 (ID SEQ N° 3)</p>
<p>- hvEGF (Human vascular Endothelial Growth Factor)</p> <p>73-IMRIKPHQGQHIGEMS-88 (ID SEQ N° 4)</p>
<p>- hTNF<math>\alpha</math> (Human Tumor Necrosis Factor alpha)</p> <p>20-PQAEGLQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEG-54 (ID SEQ N° 5)</p> <p>80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (ID SEQ N° 6)</p> <p>124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (ID SEQ N° 7)</p>
<p>- hIFN<math>\gamma</math> (Human Interferon gamma)</p> <p>1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 (ID SEQ N° 8)</p> <p>118-MAELSPAAGTKGRKRS-133 (ID SEQ N° 9)</p>
<p>- hIL10 (Human Interleukin 10)</p> <p>20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKE-50 (ID SEQ N° 10)</p>
<p>- hIL4 (Human Interleukin 4)</p> <p>5-ITLQEIIKTLNSL-17 (ID SEQ N° 11)</p> <p>70-AQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAG-95 (ID SEQ N° 12)</p>
<p>- hIL12p40 (Human Interleukin 12 sous unité p40)</p> <p>80-LLLHKKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFRLRCE-110 (ID SEQ N° 13)</p> <p>135-KSSRGSSDPQG-145 (ID SEQ N° 14)</p>
<p>- hIL18 (Human Interleukin 18)</p> <p>1-YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTD-35 (ID SEQ N° 15)</p>

68-CEKISTLSCEN-78 (ID SEQ N° 16)
141-EDELGDRSIMFTVQNED-157 (ID SEQ N° 17)
- hIP10 (Human Interferon gamma inducible protein)
39-VEIIATMKKKGEKRKRCLNPESKA-60 (ID SEQ N° 18)
- hIL5 (Human Interleukin 5)
1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (ID SEQ N° 19)
96-LQEFLGVMNTEWI-108 (ID SEQ N° 20)
- hTGFβ2 (Human Transforming Growth Factor beta type 2)
25-KRDLGWKWIHE-35 (ID SEQ N° 21)
87-TILYYIGKTPKIEQ -100 (ID SEQ N° 22)
- hIL15 (Human Interleukin 15)
1-MNWWNVISDLKKI-13 (ID SEQ N° 23)
74-SSNGNITESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMF-111 (ID SEQ N° 24)
- hIL6 (Human Interleukin 6)
28-KQIRYILDGISA-39 (ID SEQ N° 25)
114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (ID SEQ N° 26)
- hMIP1α (Human Macrophage Inflammatory Protein alpha)
12-FSYTSRQIPQNFIA-25 (ID SEQ N° 27)
51-ADPSEEWVQKYVSDLELSA -69 (ID SEQ N° 28)
- hMIP1β (Human Macrophage Inflammatory Protein beta)
13-ASYTARKLPRNFVVD-27 (ID SEQ N° 29)
52-ADPSESWWQEYVYDLELN-69 (ID SEQ N° 30)
- hIL13 (Human Interleukin 13)
8-TALRELIEEL-17 (ID SEQ N° 31)
57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (ID SEQ N° 32)
- hRANTES (Human Regulated upon Activation Normal T-cell expressed)
12-FAYIARPLPRAHIK-25 (ID SEQ N° 33)
51-ANPEKKWWREYINSLEMS-68 (ID SEQ N° 34)



-hIFN $\alpha$  (Human Interferon alpha)

12-RRTLMLLAQMRK-23 (ID SEQ N° 35)

95-LEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK-131

(ID SEQ N° 36)

Les séquences qui précèdent ont été choisies dans les cytokines qui participent au développement de maladies humaines de par leur rôle dans la réponse inflammatoire ou la réponse immunitaire spécifique.

5 On retient tout particulièrement les peptides suivants :

- 123-STSQAEENMPV-132 de hIL1 $\beta$
- 73-IMRIKPHQGQHIGEMS de hvEGF
- 20-PQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEG-54 de hTNF $\alpha$
- 1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 de hIFN $\gamma$
- 10 - 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKE-50 de hIL10
- 70-AQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAG-95 de hIL4
- 1-YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTD-35 de hIL18.

Comme le sait l'homme de l'art de l'immunologie, des modifications des enchaînements peptidiques naturels sont possibles sans  
 15 pour autant modifier la nature des propriétés immunologiques des peptides immunogènes. On peut donc citer également les dérivés de peptides de cytokine qui sont fortement homologues à ces séquences naturelles, par exemple ayant plus de 50% d'homologie, en particulier plus de 70% d'homologie, et de préférence plus de 80% d'homologie ou même plus de  
 20 90% d'homologie avec le peptide natif correspondant tout en conservant les propriétés immunologiques de ce site épitopique du peptide natif. Leur zone d'homologie peut varier de 5 à 40 résidus, par exemple de 8 à 40 résidus, ou encore de 8 à 35 résidus, de préférence de 10 à 35 résidus mais aussi de 12 à 35 résidus, notamment de 12 à 30 résidus, en particulier de 15 à 30 résidus  
 25 et tout particulièrement de 15 à 25 résidus.

Les dérivés des peptides de cytokine peuvent contenir des résidus modifiés, à condition que les modifications n'abaissent pas

sensiblement l'immunogénicité, soit par addition de radicaux chimiques (méthyle, acétyle etc...) soit par modification stéréochimique (utilisation d'acides aminés de série D). Les dérivés peptidiques de cytokine doivent, comme les peptides de cytokine induire des anticorps interagissant avec la cytokine.

Les dérivés peptidiques de cytokine selon l'invention peuvent comporter une ou plusieurs modifications dans les acides aminés dont ils sont constitués telles que des délétions, substitutions, additions, ou fonctionnalisations (telles qu'acylation) d'un ou plusieurs acides aminés, dans la mesure où ces modifications restent dans le cadre précisé ci-dessus (caractères immunologiques). Par exemple, en général le remplacement d'un résidu leucine par un résidu isoleucine ne modifie pas de telles propriétés ; les modifications doivent généralement concerner moins de 40% d'acides aminés, notamment moins de 30% de préférence moins de 20% et tout particulièrement moins de 10% des acides aminés du peptide naturel. Il est important que les anticorps induits par les peptides modifiés soient actifs vis à vis de la cytokine native.

Ces modifications sont à la portée de l'homme de l'art qui peut vérifier l'incidence des modifications par des tests simples. L'immunogénicité de tels dérivés modifiés peut être évaluée par ELISA après immunisation de souris, l'antigène testé par ELISA étant la cytokine entière ou le peptide de cytokine immunisant, ou par des tests de blocage de la liaison cytokine-récepteur. Les éventuelles modifications affectent de préférence moins de 8 acides aminés, avantageusement moins de 6 acides aminés, notamment moins de 4 acides aminés, et particulièrement 3 acides aminés ou moins comme 2 ou 1 seul acide aminé.

L'invention a encore pour objet un composé caractérisé en ce qu'il renferme au moins un peptide de cytokine ou dérivé de peptide de cytokine ci-dessus. Un tel composé peut comprendre des répétitions de peptides/dérivés identiques, ou des combinaisons de peptides/dérivés différents, que ce soit sous forme linéaire ou sous forme de structure en

candélabre ou de couplages mixtes à des protéines porteuses. Ainsi des peptides de cytokine ou les dérivés peptidiques de cytokine selon l'invention peuvent par exemple être insérés dans des séquences plus longues d'acides aminés donnant notamment une meilleure conformation ou combinés à des  
5 épitopes T exogènes (que ce soit pour des immunisations protéiques ou par ADN).

Ils peuvent avantageusement être associés de manière covalente à des protéines porteuses comme par exemple le KLH.

Comme on l'a vu, les peptides de cytokine selon l'invention  
10 correspondent en général à un petit nombre d'épitopes de la cytokine. Lorsqu'ils sont notamment insérés, combinés ou associés, les composés ci-dessus ne comportent pas d'autres épitopes de ladite cytokine.

Ces peptides de cytokine ou dérivés de cytokine pourront être inclus dans toute séquence de protéine qui ne comprendra pas d'homologie  
15 avec les autres épitopes de la cytokine naturelle. Par exemple, ils pourront être les sites de liaison au récepteur, aux extrémités desquelles on ajoute simplement une cystéine pour conférer au peptide une structure cyclique. Un autre exemple est un peptide entouré de séquences d'épitopes T de la toxine tétanique. Encore un autre exemple pourra comprendre un peptide  
20 correspondant à la séquence du site de liaison au récepteur mais où certains acides aminés sont remplacés par leurs isomères de série D afin d'éviter leur effet agoniste. En effet, il pourra être éventuellement avantageux d'utiliser des dérivés peptidiques qui n'ont pas d'activité agoniste sur le récepteur afin que l'immunogène ne puisse pas interférer avec la réponse immunitaire.

25 De façon à augmenter la réponse immunitaire, ces peptides de cytokine ou dérivés de cytokine pourront être couplés à des protéines porteuses. Les méthodes de couplages et la protéine porteuse considérées pourront être différentes selon le peptide ciblé : il pourra s'agir par exemple de la protéine Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) et Tetanus Toxoid (TT)  
30 conjugués aux peptides par des méthodes chimiques bien connues de l'homme de l'art comme celles de couplage par le carbodiimide, ou par le

glutaraldéhyde ou par la benzidine bis-diazotée. La réalisation de ces couplages pourra être facilitée par l'addition ou l'incorporation d'acides aminés à la séquence comme par exemple des lysines, des histidines, des tyrosines ou des cystéines. De tels composés peptidiques couplés à un épitope T  
 5 exogène (provenant de plasmodium falciparum, de KLH, etc..) que ce soit de manière chimique ou de manière génétique entrent aussi dans le cadre de l'invention.

Des couplages en réseau de type en candélabre ou à des molécules telles que la transferrine ou la ferritine peuvent être aussi mis en  
 10 œuvre pour stimuler efficacement la réponse immunitaire.

Les peptides selon l'invention peuvent être notamment produits par synthèse chimique ou par génie génétique ou par tout autre méthode adaptée. La synthèse de peptides cycliques, au besoin en greffant un ou plusieurs acides aminés en bout de chaîne comme des cystéines pour créer  
 15 un pont disulfure permet de retrouver une partie de la structure secondaire que ces fragments peptidiques possèdent dans la structure tridimensionnelle de la protéine.

Les peptides de cytokine, dérivés de cytokine et leurs composés selon l'invention possèdent de très intéressantes propriétés pharmacologiques.  
 20 Ils sont doués notamment de remarquables propriétés anti-cytokines. Ils sont en effet immunogènes et capables de générer chez un patient des anticorps contre la cytokine native. Ces peptides ne contiennent pas les nombreux autres épitopes provenant de la cytokine à laquelle ils correspondent.

Ces propriétés sont illustrées ci-après dans la partie  
 25 expérimentale. Elles justifient l'utilisation des peptides ci-dessus décrits à titre de médicament.

Le fait de se limiter à ces peptides proches du site de liaison au récepteur, à l'exclusion des autres épitopes des cytokines, donne notamment l'avantage de limiter la génération d'anticorps facilitants ou potentialisateurs  
 30 de l'activité cytokinique. De plus, ils permettent d'augmenter la qualité de

l'immunisation anticytokine car on limite le nombre de déterminants antigéniques ciblés.

C'est pourquoi l'invention a encore pour objet des médicaments caractérisés en ce qu'ils sont constitués des peptides de cytokine ou dérivés de cytokine ou composés tels que définis ci-dessus, c'est à dire des des  
5 peptides de cytokine ou dérivés de cytokine ou composés immunogènes tels que définis ci-dessus pour leur utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal, ainsi que l'utilisation d'un tel peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène pour la  
10 préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement ou à la prévention des affections liées à un excès ou à la présence de cytokines.

Les médicaments selon la présente invention trouvent leur emploi par exemple dans le traitement tant curatif que préventif des maladies liées aux dérèglements du système immunitaire impliquant des surproductions de  
15 cytokines comme par exemple les maladies auto-immunes (comprenant entre autres la sclérose en plaques, la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis, le diabète auto-immun, le lupus), l'allergie ou l'asthme, les cancers ou le SIDA. Ainsi il est clair que la lutte contre l'IL1 $\beta$  ou le TNF $\alpha$  peut-être utile dans la polyarthrite rhumatoïde, la lutte contre l'IFN $\gamma$  ou l'IL12 peut être utile dans la  
20 lutte contre la sclérose en plaques ou le diabète auto-immun, la lutte contre l'IL4, l'IL5 et l'IL13 peut être utile contre l'allergie ou l'asthme, la lutte contre l'IL10 ou le vEGF peut être utile contre certains cancers. Plus généralement les dérèglements Th1/Th2 qui gouvernent la réponse immunitaire elle-même et qui font classiquement intervenir IL12, IL2, IL4, IL6, IL10, IL13, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$   
25 pourront bénéficier d'un réajustement de l'équilibre par l'immunisation active. Ce ne sont là que quelques exemples, et l'invention a aussi pour objet tout traitement du corps humain, basé sur une immunisation active (ADN ou peptide) impliquant les séquences peptidiques mentionnées ci-dessus à l'exclusion des autres épitopes des cytokines. Ces séquences pourront être  
30 modifiées comme indiqué dans la présente description, et les immunisations par ADN se feront par simple traduction à partir du code génétique.

La réponse immunitaire humorale pourra être évaluée par des tests ELISA ou des tests montrant l'inhibition de la liaison de la cytokine native à son récepteur. La réponse cellulaire pourra être évaluée en présence de tests de prolifération cellulaire face au peptide utilisé.

5 Les principes actifs immunogènes selon l'invention peuvent être utilisés comme suit :

On administre à un patient un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène selon la présente invention, par exemple par voie sous-cutanée ou intramusculaire, en quantité suffisante pour être  
10 efficace sur le plan thérapeutique, à un sujet ayant besoin d'un tel traitement. La dose administrée peut aller par exemple de 1 à 1000 µg, notamment 10 à 500 µg par voie sous-cutanée, une fois par mois pendant trois mois, puis périodiquement en fonction du taux des anticorps sériques induits, par exemple tous les 2-6 mois. On pourra administrer dans une même préparation  
15 deux ou plusieurs molécules immunogènes différentes pour induire des anticorps neutralisant toutes les sites fonctionnels délétères au cas où une seule molécule immunogène ne porte pas tous les sites actifs de la cytokine surproduite que l'on veut neutraliser.

L'invention a aussi pour objet les compositions pharmaceutiques  
20 notamment les vaccins qui renferment au moins un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène précité, à titre de principe actif.

A titre de médicaments, un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène de l'invention peut être incorporé dans des compositions pharmaceutiques destinées à n'importe quelle voie  
25 conventionnelle en usage dans le domaine des vaccins, en particulier par voie sous-cutanée, par voie intramusculaire, par voie intraveineuse ou par voie orale. L'administration peut avoir lieu en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois après un certain intervalle de temps.

C'est pourquoi la présente demande a également pour objet une  
30 composition pharmaceutique, curative ou préventive, caractérisée en ce qu'elle comprend à titre de principe actif, un ou plusieurs peptides de cytokine

ou dérivés de cytokine ou composés immunogènes nouveaux tel que définis ci-dessus.

L'agent immunogène peut être conditionné seul ou mélangé à un excipient ou mélange d'excipients pharmaceutiquement acceptables tel qu'un adjuvant. La présente demande a plus particulièrement pour objet un vaccin contenant à titre d'immunogène, un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène ci-dessus.

La présente invention a encore pour objet un procédé de préparation d'une composition ci-dessus décrite, caractérisé en ce que l'on mélange, selon des méthodes connues en elles mêmes, le ou les principes actifs avec des excipients acceptables, notamment pharmaceutiquement acceptables.

L'administration à un patient d'un un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène selon l'invention correspond à une immunothérapie active. Il peut être intéressant également de procéder à une immunothérapie passive, c'est à dire de fournir à un patient directement des anticorps dont il a besoin.

Les préparations vaccinales pourront être conditionnées pour la voie intra nasale sous forme de gel avec comme excipient le carbopol, de gouttes nasales ou de spray et pour la voie orale sous forme de capsules gastrorésistantes, de dragées ou de granules gastrorésistants.

Dans le cas de vaccin ADN administré par voie systémique ou mucosale, la présentation galénique du plasmide pourra être une suspension dans un liquide physiologique tel le PBS physiologiques (tampon phosphate = PBS). Les plasmides pourront être inclus dans des microsphères de polymères biodégradable (PLG, PLA, PCL) et administrées dans des capsules gastrorésistantes pour ingestion (voie orale). L'ADN pourra également être exprimé dans un vecteur vivant bactérien, type salmonelle ou viral type adénovirus ou poxvirus.

La présente demande a enfin pour objet un procédé d'immunisation active de patients caractérisé en ce que l'on utilise à titre

d'immunogène un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène tel que défini ci-dessus avantageusement associé à un adjuvant d'immunité minéral, huileux ou de synthèse.

Les immunisations pourront se faire classiquement notamment  
 5 par des peptides ou des composés immunogènes comme des conjugués de préférence en présence d'un adjuvant, par exemple l'ISA 51 ou l'Alun. Les immunisations pourront se faire à base d'ADN (séquences homologues aux sites de liaison combinées avec des épitopes T exogènes) en utilisant de l'ADN nu ou un vecteur d'expression contenant un promoteur adapté comme  
 10 par exemple le pCR3.1. Les ADN administrés pourront être protégés des nucléases par l'utilisation de radicaux adéquats (CpG etc.). On pourra notamment faire suivre une immunisation initiale par ADN par des rappels classiques à l'aide des composés peptidiques.

Les conditions préférentielles de mise en œuvre des peptides ci-  
 15 dessus décrits s'appliquent également aux autres objets de l'invention visés ci-dessus.

La figure 1 et la figure 2 qui est un agrandissement de la figure 1  
 représentent la structure cristallographique du peptide provenant de l'IL10 en  
 contact avec son récepteur. On distingue la cytokine IL10 (à gauche) en  
 20 contact avec son récepteur (à droite).

Sur la figure 2, on peut observer que les acides aminés marqués en noir sont espacés de moins de 4 Angströms ( $d$ =pointillé entre deux boules noires). Ils correspondent de bas en haut aux couples :  
 192IL10R Sérine vis-à-vis du 28IL10 Acide Aspartique ( $3.18\text{\AA}$ ) , 100IL10R  
 25 Acide aspartique et 101IL10R acide glutamique vis-à-vis du 34IL10 Lysine ( $3.83\text{\AA}$  et  $3.84\text{\AA}$ ), et 94IL10R Asparagine vis-à-vis du 39IL10 Méthionine ( $3.70\text{\AA}$ ). Pour chaque acide aminé un point central a été déterminé comme étant le barycentre du carbone alpha de l'acide aminé considéré, de l'extrémité de la chaîne latérale et d'un troisième point choisi comme étant le  
 30 plus extrême des deux précédents sur la chaîne latérale. La distance  $d$  mesurée est la distance séparant les points centraux des acides aminés



respectivement de la cytokine et de son récepteur. On peut évidemment définir les distances en utilisant d'autres méthodes usuelles.

Les exemples qui suivent illustrent la présente invention.

# 5 Exemple 1 :

Le peptide KLHLQGQDMEQQ (ID SEQ N° 37) a été synthétisé à partir de la séquence d'IL1 $\beta$  humaine, le résidu K a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde.

- 10 Cinq souris ont été immunisées en présence de l'adjuvant ISA51. Pour la première injection réalisée à J0, on prépare une émulsion de 40 $\mu$ g d'immunogène dans une quantité d'ISA51 suffisante pour préparer 100 $\mu$ l d'émulsion. Pour le rappel à J21 et à J40, on prépare 100 $\mu$ L d'émulsion contenant 20 $\mu$ g d'immunogène. Cinq souris ont été immunisées en parallèle  
15 comme contrôles avec du KLH dans le même adjuvant.

A J60, du sérum est prélevé et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

20

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.34	0.08	1.86	0.90	1.56	1.15
Contrôle	0.05	0.11	0.08	0.12	0.06	0.08

- L'existence d'anticorps neutralisant la cytokine native a pu être évaluée de la façon suivante : 20 unités de cytokine IL1 $\beta$  native sont préincubées avec du sérum de souris (immunisée ou contrôle) dilué du  
25 1/100<sup>ième</sup> au 1/2000<sup>ième</sup> pendant 2H à 37 °C. Le tout est ensuite ajouté à des cellules EL4, mises à 50 000 cellules en micropuits. La production d'IL2 est évaluée après 24 heures dans le surnageant par un test ELISA sandwich (R&D diagnostics). Le pourcentage d'inhibition de la production d'IL2 indique

le pourcentage de neutralisation de l'IL1 $\beta$ . Comme on peut le voir, on observe des réponses pour les souris immunisées mais pas pour les contrôles.

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	52%	25%	93%	86%	8%	52%
Contrôle	8%	-5%	11%	5%	12%	6%

5

#### Exemple 2 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide de synthèse **provenant** du vEGF humain : KPHQGQHIGEMS. (ID SEQ N° 38) Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

10

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

15

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.50	1.00	0.86	0.98	1.63	1.19
Contrôle	0.05	0.13	0.07	0.10	0.08	0.09

#### Exemple 3 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide de synthèse **provenant** du TNF $\alpha$  humain qui est : KYQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQL. (ID SEQ N° 39) Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au diazobenzidine. Les résidus K et Y ont été ajoutés à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

25

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.64	1.14	1.96	1.02	0.78	1.31
Contrôle	0.11	0.16	0.09	0.11	0.18	0.13

- 5 L'existence d'anticorps neutralisant la cytokine native a pu être évaluée de la façon suivante : 50 unités de cytokine  $\text{TNF}\alpha$  native sont préincubées avec du sérum de souris (immunisée ou contrôle) dilué au  $1/200^{\text{ème}}$  pendant 2H à 37 °C. Le tout est ensuite ajouté à des cellules L929, mise à 25 000 cellules par micropuits. La lyse des cellules est évaluée après
- 10 24 heures par coloration au naphthol blue black (Sigma). Le pourcentage d'inhibition de la lyse indique le pourcentage de neutralisation du  $\text{TNF}\alpha$ , et comme on peut voir, on observe des réponses pour les souris immunisées mais pas les contrôles.

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	88%	12%	93%	36%	79%	61%
Contrôle	5%	6%	14%	5%	1%	6%

15

#### Exemple 4 :

- On a immunisé 5 souris avec le peptide provenant de l'IFN $\gamma$  humain qui est : KKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN (ID SEQ N° 40). Ce peptide a été synthétisé chimiquement sous forme de MAPS. Ce peptide
- 20 MAPS a ensuite été couplé à la protéine porteuse Tétanus Toxoid par réaction au glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

- L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est
- 25 présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.56	1.05	0.98	1.80	1.64	1.41
Contrôle	0.10	0.12	0.23	0.08	0.09	0.12

L'existence d'anticorps neutralisant la cytokine native a pu être évaluée de la façon suivante : 100 unités de cytokine native sont pré incubées avec du sérum de souris (immunisée ou contrôle) dilué du 1/250<sup>ième</sup> pendant 2H à 37 °C. Le tout est ensuite ajouté à des cellules RAW 264.7, mises à 300 000 cellules dans des puits de 2 ml. L'expression de CMH de classe II sur les cellules est évaluée par cytométrie de flux après 24 heures, par marquage avec des anticorps anti-CMH de classe II couplés à la fluorescéine. Le pourcentage d'inhibition de l'expression du CMH de classe II indique le pourcentage de neutralisation de l'IFN $\gamma$ , et comme on peut voir, on observe des inhibitions pour les souris immunisées mais pas les contrôles. Le seuil de signification pour ces expériences est de 30%.

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	40%	89%	67%	38%	83%	63%
Contrôle	25%	14%	-10%	29%	7%	13%

Exemple 5 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide provenant de l'IL10 humaine qui est : DECNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNC (ID SEQ N° 41). Ce peptide a été synthétisé chimiquement, et une cystéine a été ajoutée à chaque extrémité de sorte à en faire un peptide cyclique. Ce peptide a ensuite été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au carbodiimide. Le résidu DE a aussi été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par réaction au carbodiimide. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.94	0.96	1.85	0.97	1.5	1.44
Contrôle	0.29	0.52	0.17	0.26	0.36	0.32

5 Exemple 6 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL4 humaine qui est : KQLIRFLKRLDRNLWGLAG (ID SEQ N° 42). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est  
10 prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.06	1.25	0.95	0.87	1.24	1.07
Contrôle	0.34	0.09	0.26	0.16	0.12	0.19

15

Exemple 7 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL12p40 humaine qui est : KKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFRLRCE (ID SEQ N° 43). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse Tetanos  
20 Toxoïde par réaction au benzidine bis-diazoté (diazoté). Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est  
25 présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	0.95	1.06	1.58	1.14	0.87	1.12
Contrôle	0.06	0.12	0.09	0.05	0.09	0.08

## Exemple 8 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide provenant de l'IL18 humaine qui est : KYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFID (ID SEQ N° 44). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Le résidu K a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.85	1.13	0.99	1.24	1.54	1.35
Contrôle	0.31	0.09	0.27	0.16	0.24	0.21

## Exemple 9 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide synthétique provenant de l'IP10 humain qui est : KKKGEKRRKRLNPESKA (ID SEQ N° 45). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse Tetanos Toxoïde par réaction au glutaraldéhyde. Les trois résidus K présents dans la séquence naturelle permettent une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.16	0.98	1.24	1.09	0.88	1.07
Contrôle	0.32	0.21	0.11	0.20	0.09	0.19

#### 5 Exemple 10 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL5 humaine qui est : KLQEFLGVMNTEWI (ID SEQ N° 46). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Le résidu K a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par  
10 couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est  
15 présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.25	1.21	1.87	1.10	0.88	1.26
Contrôle	0.51	0.21	0.42	0.09	0.38	0.32

#### Exemple 11:

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à le  
20 TGF $\beta$ 2 humain qui est : DTILYYIGKTPKIE (ID SEQ N° 47). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au carbodiimide. Le résidu D a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison par couplage. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine  
25 native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	0.95	1.15	0.99	1.17	1.08	1.07
Contrôle	0.40	0.09	0.35	0.26	0.29	0.28

#### 5 Exemple 12 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL6 humaine qui est : KQIRYILDGISA (ID SEQ N° 25). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse TT par réaction au benzidine bis-diazoté (diazoté). Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est  
10 prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

15

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.11	1.27	1.02	1.34	0.32	1.01
Contrôle	0.11	0.15	0.29	0.14	0.21	0.21

#### Exemple 13

Les ADN correspondants aux peptides 1-APVRSLNCTL-10 (GCACCTGTACGATCACTGAACTGCACGCTC) (ID SEQ N° 48), 29-  
20 LHLQGQDMEQQ-39 (CTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAA) (ID SEQ N° 49) et 123-STSQAENMPV-132 (AGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCGTC) (ID SEQ N°50) de l'IL1 $\beta$  ont été synthétisés et sont séparés des épitopes T de la toxine tétanique : AQYIKANSKFIGITEL (ID SEQ N° 55)



(CAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCGGTATCACTGAGCTG)  
(ID SEQ N° 51)

et du KLH : VDTVVRKNVDSL

(GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT) (ID SEQ N° 52),

5 par des écarteurs GYG (GGCTACGGC) (ID SEQ N° 54).

La séquence nucléotidique finale est la suivante:

GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCGCACCTGT  
ACGATCACTGAACTGCACGCTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAA  
AATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCCTCCACCTCCAGGGACAGGATATGG  
10 AGCAACAAGGCTACGGCCAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCGG  
TATCACTGAGCTGGGCTACGGCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCC  
GTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT  
(ID SEQ N° 53).

15 Cette séquence d'ADN, clonée dans pRSET-A, code donc pour  
un polypeptide composé qu'on produit et purifie par génie génétique sous  
forme de protéine de fusion poly-Histidine. Ce polypeptide est utilisé comme  
immunogène comme dans l'exemple 1.

La réponse anticorps des souris est mesurée contre l'IL1 $\beta$  native  
par ELISA et on trouve les valeurs suivantes :

20

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	0.86	0.73	1.68	1.55	1.83	1.33
Contrôle	0.23	0.11	0.21	0.29	0.17	0.20

#### Exemple 14.

Les ADNc correspondants aux peptides 1-APVRSLNCTL-10  
(GCACCTGTACGATCACTGAACTGCACGCTC) (ID SEQ N° 48), 29-  
25 LHLQGQDMEQQ-39 (CTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAA)  
(ID SEQ N° 49) et 123-STSQAENMPV-132  
(AGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCCGTC) (ID SEQ N° 50) de l'IL1 $\beta$  ont  
été synthétisés et sont séparés des épitopes T de la toxine tétanique

AQYIKANSKFIGITEL

(CAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCGGTATCACTGAGCTG)

(ID SEQ N° 51)

et du KLH :

- 5 VDTVVRKNVDSL (GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT)  
(ID SEQ N° 52)

par des spacers GYG.

La séquence finale est la suivante:

- GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCGCACCTGT  
10 ACGATCACTGAACTGCACGCTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAA  
AATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCCTCCACCTCCAGGGACAGGATATGG  
AGCAACAAGGCTACGGCCAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCGG  
TATCACTGAGCTGGGCTACGGCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCC  
GTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT  
15 (ID SEQ N° 53).

Cette séquence d'ADN, clonée dans pCR3.1, code donc pour un polypeptide IL1b sous contrôle du promoteur du CMV.

- On réalise une première injection intra-musculaire en injectant 100 µg de vecteur dans une solution saline de 100 µl. On réalise 2 rappels à  
20 J21 et J40 avec le peptide de l'exemple 13 (immunisation du type "prime-boost"). A J60 la réponse la réponse anticorps est évaluée par test ELISA sur la cytokine native sur les 5 souris immunisées et les 5 souris contrôle.

Le résultat est le suivant :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.54	0.35	1.88	1.64	0.24	1.13
Contrôle	0.13	0.11	0.18	0.08	0.23	0.14

25

Exemple 15.

Le vaccin est formé d'une émulsion eau dans huile constituée de 50 % d'ISA 51 (Seppic, Paris) et de 50 % d'une solution aqueuse de peptide de l'exemple 1 (50 µg/dose).

- 5                    Exemple 16 : Vaccin à base de l'immunogène plasmidique pour vaccination ADN de type systémique IL10.

Des plasmides codant pour les peptides APVRSLNCTL et LHLQGQDMEQQ de l'IL1β (20 µg/dose) ont été mis en suspension dans 0,2 ml de PBS pour administration intramusculaire.

10

Exemple 17.

On a préparé un vaccin formé d'une émulsion eau dans huile de 50 % d'ISA (SEPPIC, Paris) et de 50 % d'une solution aqueuse du peptide de synthèse KYQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQL dérivé de TNFα

- 15    humain couplé au KLH (100 µg/dose).

REVENDICATIONS

1. Un peptide de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés, provenant d'une cytokine, caractérisé en ce que au moins un de ses acides aminés comporte au moins un de ses atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, l'espacement d étant évalué sur des données structurales.

2. Un peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que deux de ses acides aminés consécutifs comportent au moins un de leurs atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine

3. Un peptide selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les fragments des cytokines suivantes : le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le VEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15,18, l'IP10, les MIP 1 $\alpha$  et 1 $\beta$ , et Rantes.

4. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les fragments des cytokines suivantes : le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le VEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15.

5. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que d est inférieur à 4 angströms.

6. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que 3 ou 4 acides aminés consécutifs du peptide de cytokine répondent à ce même critère d'espacement.

7. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 6 caractérisé en ce qu'il comporte moins de 30 acides aminés.

8. Un peptide choisi parmi ceux dont les noms suivent :

- hIL1 $\beta$  (Human Interleukin 1 beta)

1-APVRSLNCTL-10 (ID SEQ N° 1)

29-LHLQGQDMEQQ-39 (ID SEQ N° 2)

123-STSQAEENMPV-132 (ID SEQ N° 3)

REVENDICATIONS

1. Un peptide de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés, provenant d'une cytokine, caractérisé en ce que au moins un de ses acides aminés comporte au moins un de ses atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, l'espacement d étant évalué sur des données structurales.

2. Un peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que deux de ses acides aminés consécutifs comportent au moins un de leurs atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine

3. Un peptide selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les fragments des cytokines suivantes : le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le VEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15,18, l'IP10, les MIP 1 $\alpha$  et 1 $\beta$ , et Rantes.

4. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les fragments des cytokines suivantes : le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le VEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15.

5. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que d est inférieur à 4 angströms.

6. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que 3 ou 4 acides aminés consécutifs du peptide de cytokine répondent à ce même critère d'espacement.

7. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 6 caractérisé en ce qu'il comporte moins de 30 acides aminés.

8. Un peptide tel que défini à la revendication 1, choisi parmi ceux dont les noms suivent :

- hvEGF (Human vascular Endothelial Growth Factor) 73-IMRIKPHQGQHIGEMS-88 (ID SEQ N° 4)
- hTNF $\alpha$ (Human Tumor Necrosis Factor alpha) 20-PQAEGLQWLNRANALLANGVELRDNQLVVPSEG-54 (ID SEQ N° 5) 80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (ID SEQ N° 6) 124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (ID SEQ N° 7)
- hIFN $\gamma$ (Human Interferon gamma) 1-MQDPYVKEAENLKKEYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 (ID SEQ N° 8) 118-MAELSPAAGTKGRKRS-133 (ID SEQ N° 9)
- hIL10 (Human Interleukin 10) 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKE-50 (ID SEQ N° 10)
- hIL4 (Human Interleukin 4) 5-ITLQEIIKTLNSL-17 (ID SEQ N° 11) 70-AQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAG-95 (ID SEQ N° 12)
- hIL12p40 (Human Interleukin 12 sous unité p40) 80-LLLHKKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFRLRCE-110 (ID SEQ N° 13) 135-KSSRGSSDPQG-145 (ID SEQ N° 14)
- hIL18 (Human Interleukin 18) 1-YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGGRPLFEDMTD-35 (ID SEQ N° 15) 68-CEKISTLSCEN-78 (ID SEQ N° 16) 141-EDELGDRSIMFTVQNED-157 (ID SEQ N° 17)
- hIP10 (Human Interferon gamma inducible protein) 39-VEIIATMKKKGEKRRCLNPESKA-60 (ID SEQ N° 18)

<p>- hIL1<math>\beta</math> (Human Interleukin 1 beta)</p> <p>1-APVRSLNCTL-10 (ID SEQ N° 1)</p> <p>29-LHLQGQDMEQQ-39 (ID SEQ N° 2)</p> <p>123-STSQAENMPV-132 (ID SEQ N° 3)</p>
<p>- hvEGF (Human vascular Endothelial Growth Factor)</p> <p>73-IMRIKPHQGQHIGEMS-88 (ID SEQ N° 4)</p>
<p>- hTNF<math>\alpha</math> (Human Tumor Necrosis Factor alpha)</p> <p>20-PQAEGLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEG-54 (ID SEQ N° 5)</p> <p>80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (ID SEQ N° 6)</p> <p>124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (ID SEQ N° 7)</p>
<p>- hIFN<math>\gamma</math> (Human Interferon gamma)</p> <p>1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 (ID SEQ N° 8)</p> <p>118-MAELSPAAGTKGRKRS-133 (ID SEQ N° 9)</p>
<p>- hIL10 (Human Interleukin 10)</p> <p>20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKE-50 (ID SEQ N° 10)</p>
<p>- hIL4 (Human Interleukin 4)</p> <p>5-ITLQEIIKTLNSL-17 (ID SEQ N° 11)</p> <p>70-AQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAG-95 (ID SEQ N° 12)</p>
<p>- hIL12p40 (Human Interleukin 12 sous unité p40)</p> <p>80-LLLHKKEDGIW STDILKDQKEPKNKTFLRCE-110 (ID SEQ N° 13)</p> <p>135-KSSRGSSDPQG-145 (ID SEQ N° 14)</p>
<p>- hIL18 (Human Interleukin 18)</p> <p>1-YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTD-35 (ID SEQ N° 15)</p> <p>68-CEKISTLSCEN-78 (ID SEQ N° 16)</p> <p>141-EDELGDRSIMFTVQNED-157 (ID SEQ N° 17)</p>

- hIL5 (Human Interleukin 5) 1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (ID SEQ N° 19) 96-LQEFLGVMNTEWI-108 (ID SEQ N° 20)
- hTGFβ2 (Human Transforming Growth Factor beta type 2) 25-KRDLGWKWIHE-35 (ID SEQ N° 21) 87-TILYYIGKTPKIEQ -100 (ID SEQ N° 22)
- hIL15 (Human Interleukin 15) 1-MNWWNVISDLKKI-13 (ID SEQ N° 23) 74-SSNGNITESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMF-111 (ID SEQ N° 24)
- hIL6 (Human Interleukin 6) 28-KQIRYILDGISA-39 (ID SEQ N° 25) 114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (ID SEQ N° 26)
- hMIP1α (Human Macrophage Inflammatory Protein alpha) 12-FSYTSRQIPQNFIA-25 (ID SEQ N° 27) 51-ADPSEEWVQKYVSDLELSA -69 (ID SEQ N° 28)
- hMIP1β (Human Macrophage Inflammatory Protein beta) 13-ASYTARKLPRNFVVD-27 (ID SEQ N° 29) 52-ADPSESWWQEYVVDLELN-69 (ID SEQ N° 30)
- hIL13 (Human Interleukin 13) 8-TALRELIEEL-17 (ID SEQ N° 31) 57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (ID SEQ N° 32)
- hRANTES (Human Regulated upon Activation Normal T-cell expressed) 12-FAYIARPLPRAHIK-25 (ID SEQ N° 33) 51-ANPEKKWVREYINSLEMS-68 (ID SEQ N° 34)
-hIFNα (Human Interferon alpha) 12-RRTLMLLAQMRK-23 (ID SEQ N° 35) 95-LEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK-131 (ID SEQ N° 36)



- hIP10 (Human Interferon gamma inducible protein) 39-VEIIATMKKKGEKRKRCLNPESKA-60 (ID SEQ N° 18)
- hIL5 (Human Interleukin 5) 1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (ID SEQ N° 19) 96-LQEFLGVMNTEWI-108 (ID SEQ N° 20)
- hTGFβ2 (Human Transforming Growth Factor beta type 2) 25-KRDLGWKWIHE-35 (ID SEQ N° 21) 87-TILYYIGKTPKIEQ -100 (ID SEQ N° 22)
- hIL15 (Human Interleukin 15) 1-MNWWNVISDLKKI-13 (ID SEQ N° 23) 74-SSNGNITESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMF-111 (ID SEQ N° 24)
- hIL6 (Human Interleukin 6) 28-KQIRYILDGISA-39 (ID SEQ N° 25) 114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (ID SEQ N° 26)
- hMIP1α (Human Macrophage Inflammatory Protein alpha) 12-FSYTSRQIPQNFIA-25 (ID SEQ N° 27) 51-ADPSEEWVQKYVSDLELSA -69 (ID SEQ N° 28)
- hMIP1β (Human Macrophage Inflammatory Protein beta) 13-ASYTARKLPRNFVVD-27 (ID SEQ N° 29) 52-ADPSESWVQEYVYDLELN-69 (ID SEQ N° 30)
- hIL13 (Human Interleukin 13) 8-TALRELIEEL-17 (ID SEQ N° 31) 57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (ID SEQ N° 32)
- hRANTES (Human Regulated upon Activation Normal T-cell expressed) 12-FAYIARPLPRAHIK-25 (ID SEQ N° 33) 51-ANPEKKWVREYINSLEMS-68 (ID SEQ N° 34)
- hIFNα (Human Interferon alpha) 12-RRTLMLLAQMRK-23 (ID SEQ N° 35)

9. Un dérivé d'un peptide tel que défini à l'une des revendications 1 à 8 par délétion, substitution, addition, modification stéréochimique (utilisation d'acides aminés de série D). ou fonctionnalisation (telle qu'acylation) d'un ou plusieurs acides aminés dudit peptide.

10. Un composé immunogène caractérisé en ce qu'il comprend un peptide ou dérivé d'un peptide tel que défini à l'une des revendications 1 à 9, étant entendu qu'il ne comporte pas d'autres épitopes de ladite cytokine.

11. Un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 pour son utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.

12. Utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement ou à la prévention des affections liées à un excès ou à la présence de cytokines.

13. Utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement d'une maladie auto-immune.

14. Une composition pharmaceutique qui renferme au moins un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10, à titre de principe actif.

95-LEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLK-131  
(ID SEQ N° 36)

9. Un dérivé d'un peptide tel que défini à l'une des revendications 1 à 8 par délétion, substitution, addition, modification stéréochimique (utilisation d'acides aminés de série D). ou fonctionnalisation (telle qu'acylation) d'un ou plusieurs acides aminés dudit peptide.
10. Un composé immunogène caractérisé en ce qu'il comprend un peptide ou dérivé d'un peptide tel que défini à l'une des revendications 1 à 9, étant entendu qu'il ne comporte pas d'autres épitopes de ladite cytokine.
- 10 11. Un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 pour son utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.
- 15 12. Utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement ou à la prévention des affections liées à un excès ou à la présence de cytokines.
13. Utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement d'une maladie auto-immune.
- 20 14. Une composition pharmaceutique qui renferme au moins un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10, à titre de principe actif.

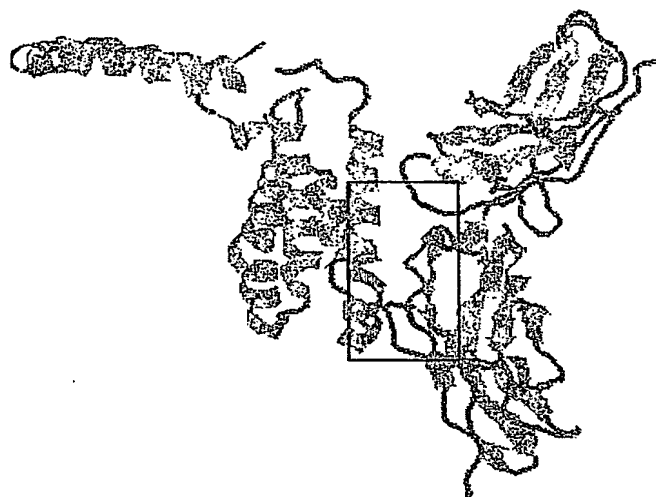


Figure 1



Figure 2

**BEST AVAILABLE COPY**

## LISTE DE SEQUENCES

&lt;110&gt; NEOVACS

5 <120> Peptides issus de cytokines et leur application en  
thérapeutique

&lt;130&gt; NEOVACS

10 &lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 55

15 &lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

20 &lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 1

Ala Pro Val Arg Ser Leu Asn Cys Thr Leu  
1 5 10

25

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

30 &lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 2

Leu His Leu Gln Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln  
1 5 10

35

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

40 &lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 3

Ser Thr Ser Gln Ala Glu Asn Met Pro Val  
1 5 10

45

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

50 &lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 4

Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser  
1 5 10 15

55

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 35

&lt;212&gt; PRT

60 &lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 5

Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala

1                      5                      10                      15  
 Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro  
                             20                      25                      30  
 5 Ser Glu Gly  
                             35  
 10 <210> 6  
     <211> 16  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens  
 15 <400> 6  
     Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser  
         1                      5                      10                      15  
 20 <210> 7  
     <211> 15  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens  
 25 <400> 7  
     Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg  
         1                      5                      10                      15  
 30 <210> 8  
     <211> 36  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens  
 35 <400> 8  
     Met Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu Asn Leu Lys Lys Tyr Phe  
         1                      5                      10                      15  
 40 Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr Leu Phe Leu Gly  
                             20                      25                      30  
     Ile Leu Lys Asn  
                             35  
 45 <210> 9  
     <211> 16  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens  
 50 <400> 9  
     Met Ala Glu Leu Ser Pro Ala Ala Lys Thr Gly Lys Arg Lys Arg Ser  
         1                      5                      10                      15  
 55 <210> 10  
     <211> 31  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens  
 60 <400> 10  
     Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val Lys Thr  
         1                      5                      10                      15

Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu Lys Glu  
                   20                  25                  30

5  
     <210> 11  
     <211> 13  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens

10  
     <400> 11  
 Ile Thr Leu Gln Glu Ile Ile Lys Thr Leu Asn Ser Leu  
     1                  5                  10

15  
     <210> 12  
     <211> 26  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens

20  
     <400> 12  
 Ala Gln Gln Phe His Arg His Lys Gln Leu Ile Arg Phe Leu Lys Arg  
     1                  5                  10                  15

25 Leu Asp Arg Asn Leu Trp Gly Leu Ala Gly  
                   20                  25

30  
     <210> 13  
     <211> 31  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens

35  
     <400> 13  
 Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu  
     1                  5                  10                  15

    Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu Arg Cys Glu  
                   20                  25                  30

40

    <210> 14  
     <211> 11  
     <212> PRT  
 45    <213> Homo sapiens

    <400> 14  
 Lys Ser Ser Arg Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly  
     1                  5                  10

50

    <210> 15  
     <211> 35  
     <212> PRT  
 55    <213> Homo sapiens

    <400> 15  
 Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu Asn  
     1                  5                  10                  15

60  
     Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp Gln Gly Asn Arg Pro Leu Phe Glu Asp  
                   20                  25                  30

Met Thr Asp  
35

5 <210> 16  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

10 <400> 16  
Cys Glu Lys Ile Ser Thr Leu Ser Cys Glu Asn  
1 5 10

15 <210> 17  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

20 <400> 17  
Glu Asp Glu Leu Gly Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln Asn Glu  
1 5 10 15

25 Asp

30 <210> 18  
<211> 24  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 18  
Val Glu Ile Ile Ala Thr Met Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Lys Arg  
1 5 10 15

35 Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys Ala  
20

40 <210> 19  
<211> 26  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

45 <400> 19  
Ile Pro Thr Ser Ala Leu Val Lys Glu Thr Leu Ala Leu Leu Ser Thr  
1 5 10 15

50 His Arg Thr Leu Leu Ile Ala Asn Glu Thr  
20 25

55 <210> 20  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

60 <400> 20  
Leu Gln Glu Phe Leu Gly Val Met Asn Thr Glu Trp Ile  
1 5 10



<210> 21  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5  
 <400> 21  
 Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu  
 1 5 10  
 10  
 <210> 22  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 15  
 <400> 22  
 Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu Gln  
 1 5 10  
 20  
 <210> 23  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 25  
 <400> 23  
 Met Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile  
 1 5 10  
 30  
 <210> 24  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 35  
 <400> 24  
 Ser Ser Asn Gly Asn Ile Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu  
 1 5 10 15  
 40 Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile  
 20 25 30  
 Val Gln Met Phe  
 35  
 45  
 <210> 25  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 50 <213> Homo sapiens  
 <400> 25  
 Lys Gln Ile Arg Tyr Ile Leu Asp Gly Ile Ser Ala  
 1 5 10  
 55  
 <210> 26  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 60 <213> Homo sapiens  
 <400> 26  
 Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys Val Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys

```

1              5              10              15
Lys Ala Lys Asn Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr Thr Asn
      20              25              30
5
Ala Ser Leu Leu
      35
10
<210> 27
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens
15
<400> 27
Phe Ser Tyr Thr Ser Arg Gln Ile Pro Gln Asn Phe Ile Ala
  1              5              10
20
<210> 28
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens
25
<400> 28
Ala Asp Pro Ser Glu Glu Trp Val Gln Lys Tyr Val Ser Asp Leu Glu
  1              5              10              15
Leu Ser Ala
30
<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens
35
<400> 29
Ala Ser Tyr Thr Ala Arg Lys Leu Pro Arg Asn Phe Val Val Asp
  1              5              10              15
40
<210> 30
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens
45
<400> 30
Ala Asp Pro Ser Glu Ser Trp Val Gln Glu Tyr Val Tyr Asp Leu Glu
  1              5              10              15
Leu Asn
55
<210> 31
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
60
<400> 31
Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu
  1              5              10

```

5 <210> 32  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 32  
 10 Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro  
     1                    5                    10                    15  
 His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser  
                     20                    25  
  
 15 <210> 33  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 20 <400> 33  
 Phe Ala Tyr Ile Ala Arg Pro Leu Pro Arg Ala His Ile Lys  
     1                    5                    10  
  
 25 <210> 34  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 30 <400> 34  
 Ala Asn Pro Glu Lys Lys Trp Val Arg Glu Tyr Ile Asn Ser Leu Glu  
     1                    5                    10                    15  
  
 35 Met Ser  
  
  
 40 <210> 35  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 35  
 45 Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys  
     1                    5                    10  
  
 50 <210> 36  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 36  
 55 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu  
     1                    5                    10                    15  
 Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile  
                     20                    25                    30  
  
 60 Thr Leu Tyr Leu Lys  
                     35

<210> 37  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 37  
 Lys Leu His Leu Gln Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln  
     1                    5                    10  
 10  
  
 <210> 38  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 15 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 38  
 Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser  
     1                    5                    10  
 20  
  
 <210> 39  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 25 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 39  
 Lys Tyr Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn  
     1                    5                    10                    15  
 30  
 Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu  
                     20                    25                    30  
  
 35 <210> 40  
     <211> 24  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens  
  
 40 <400> 40  
 Lys Lys Tyr Phe Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr  
     1                    5                    10                    15  
  
 45 Leu Phe Leu Gly Ile Leu Lys Asn  
                     20  
  
 50 <210> 41  
     <211> 29  
     <212> PRT  
     <213> Homo sapiens  
  
 <400> 41  
 Asp Glu Cys Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val  
     1                    5                    10                    15  
 55  
 Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Cys  
                     20                    25  
  
 60 <210> 42  
     <211> 19  
     <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

5 Lys Gln Leu Ile Arg Phe Leu Lys Arg Leu Asp Arg Asn Leu Trp Gly  
1 5 10 15

Leu Ala Gly

10

<210> 43

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 43

Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys  
1 5 10 15

20

Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu Arg Cys Glu  
20 25

25

<210> 44

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

30 Lys Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu  
1 5 10 15

Asn Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp  
20

35

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

40

<213> Homo sapiens

<400> 45

Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Lys Arg Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys  
1 5 10 15

45

Ala

50

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

55

<400> 46

Lys Leu Gln Glu Phe Leu Gly Val Met Asn Thr Glu Trp Ile  
1 5 10

60

<210> 47

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47  
 Asp Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu  
 1 5 10  
 5  
 <210> 48  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 10 <213> Homo sapiens  
 <400> 48 30  
 gcacctgtac gatcactgaa ctgcacgctc  
 15  
 <210> 49  
 <211> 32  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens  
 20  
 <400> 49 32  
 ctccacctcc aggacaggat atggagcaac aa  
 25 <210> 50  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens  
 30 <400> 50 30  
 agcacctctc aagcagaaaa catgcccgctc  
 35 <210> 51  
 <211> 45  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens  
 40 <400> 51 45  
 cagtacatca aggctaactc caagttcctc ggtatcactg agctg  
 45 <210> 52  
 <211> 33  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens  
 50 <400> 52 33  
 gttgacacca ccagaaaaaa tgttgactcc ctt  
 55 <210> 53  
 <211> 291  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens  
 60 <400> 53  
 gttgacacca ccagaaaaaa tgttgactcc cttggctacg gcgcacctgt acgatcactg 60  
 aactgcacgc tcggctacgg cgttgacacc accagaaaaa atgttgactc cttggctac 120  
 ggccctccacc tccagggaca ggatatggag caacaaggct acggccagta catcaaggct 180  
 aactccaagt tcatcggtat cactgagctg ggctacggca gcacctctca agcagaaaaac 240  
 atgcccgctcg gctacggcgt tgacaccacc agaaaaaatg ttgactccct t 291

<210> 54  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 5 <213> Homo sapiens

<400> 54  
 ggctacggc

9

10

<210> 55  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

15

<400> 55  
 Ala Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu  
 1 5 10 15

20

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° **1/1**

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 300301

<b>Vos références pour ce dossier</b> (facultatif)		BIF023175/FR
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		0204464
<b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)		
Nouveaux peptides et leur application en thérapeutique.		
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>		
NEOVACS		
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b> (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).		
Nom		ZAGURY
Prénoms		Jean-François
Adresse	Rue	117, rue Vieille du Temple,.
	Code postal et ville	75003 PARIS, France
Société d'appartenance (facultatif)		
Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>DATE ET SIGNATURE(S)</b> <b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b> <b>OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire)		Le 10 Avril 2002 Georges PERIN N°92.1191 RINUY, SANTARELLI